

523,330

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
4. März 2004 (04.03.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/019007 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **G01N 1/28**

GMBH [DE/DE]; Ernst-Leitz-Strasse 17-37, 35578 Wetzlar (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: **PCT/EP2003/007054**

(22) Internationales Anmeldedatum:
2. Juli 2003 (02.07.2003)

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): **WITTKE, Werner** [DE/DE]; Neue Kreisstrasse 11 A, 35619 Braunfels (DE).
MAY, Christian [DE/DE]; Alter Kirchhainer Weg 36, 35039 Marburg (DE).

(25) Einreichungssprache: **Deutsch**

(26) Veröffentlichungssprache: **Deutsch**

(30) Angaben zur Priorität:
102 34 755.7 30. Juli 2002 (30.07.2002) **DE**

(74) Anwalt: **REICHERT, Werner, F.**; Leica Microsystems AG, Corporate Patents + Trademarks Department, Ernst-Leitz-Strasse 17-37, 35578 Wetzlar (DE).

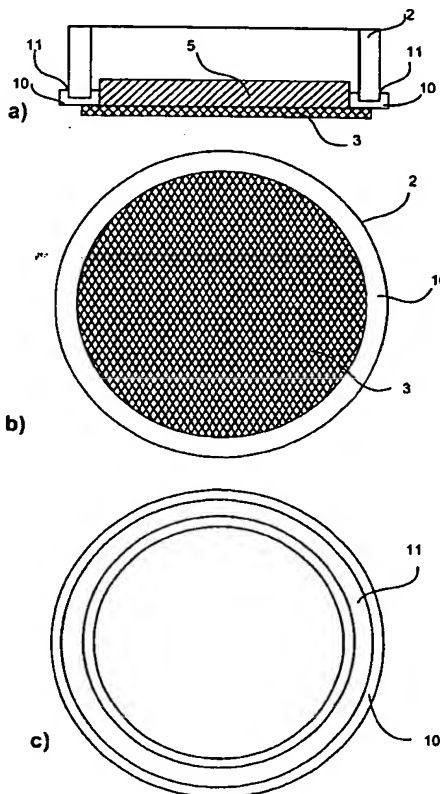
(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): **LEICA MICROSYSTEMS WETZLAR**

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): **CA, CN, JP, US.**

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: **CARRIER DEVICE FOR A BIOLOGICAL PREPARATION WHICH CAN BE CUT BY MEANS OF LASER MICRO-DISSECTION**

(54) Bezeichnung: **TRÄGERVORRICHTUNG FÜR EIN BIOLOGISCHES, MITTELS LASER-MIKRODISSEKTION SCHNEIDBARES PRÄPARAT**



(57) Abstract: The invention relates to a carrier device (1) for a biological preparation (5) which can be cut by means of laser micro-dissection, said preparation (5) being arranged on a freely stressed film (3) which absorbs laser light and is applied to a frame-shaped holder. According to the invention, the frame-shaped holder is essentially embodied as the wall (2) of a petridish without a bottom or partially provided with a bottom, and the film (3) absorbing laser light exclusively replaces said missing bottom. The invention also relates to a device for laser micro-dissection in which a cutting, focussed laser beam (17) is downwardly oriented through an objective (19) towards a biological preparation (5), an interesting preparation region being encircled by a closed cutting line and cut out of its surrounding area. Said device for laser micro-dissection is suitable for the laser micro-dissection of biological live cultures, in that it is provided with an inventive carrier device (1) containing an applied biological live preparation (5).

(57) Zusammenfassung: Es wird eine Trägereinrichtung (1) für ein biologisches, mittels Laser Mikrodisektion schneidbares Präparat (5) angegeben, wobei das Präparat (5) auf einer freigespannten laserlichtabsorbierenden Folie (3) angeordnet ist, die auf einen rahmenförmigen Halter aufgebracht ist. Erfindungsgemäß ist der rahmenförmige Halter im wesentlichen als Wand (2) einer Petrischale mit ganz oder teilweise fehlendem Boden ausgebildet und anstelle des fehlenden Bodens ist ausschließlich die laserlichtabsorbierende Folie (3) angeordnet. Eine Vorrichtung zur Laser-Mikrodisektion, in der ein schneidender, fokussierter Laserstrahl (17) durch ein Objektiv (19) von oben auf ein biologisches Präparat (5) gerichtet wird, wobei ein interessierender Präparatbereich mit einer geschlossenen Schnittlinie umfahren und aus seiner Umgebung herausgetrennt wird, eignet sich zur Laser-Mikrodisektion an biologischen Lebend-Kulturen, indem sie mit einer solchen Trägereinrichtung (1) mit einem aufgetragenen biologischen Lebend-Präparat (5) ausgestattet wird.

WO 2004/019007 A1



(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

**Trägervorrichtung für ein biologisches, mittels Laser-Mikrodissektion
schneidbares Präparat**

Die Erfindung betrifft eine Trägervorrichtung für ein biologisches, mittels
Laser-Mikrodissektion schneidbares Präparat, das auf einer freigespannten
5 laserlichtabsorbierenden Folie angeordnet ist, die auf einen rahmenförmigen
Halter aufgebracht ist.

Mit Mikrodissektion wird im Bereich der Biologie und der Medizin ein
Verfahren bezeichnet, mit dem aus einem im allgemeinen flachen Präparat
(beispielsweise Zellen oder ein Gewebeschnitt) ein kleines Stück mit einem
10 feinen, fokussierten Laserstrahl ausgeschnitten wird. Das ausgeschnittene
Stück steht damit für weitere biologische oder medizinische (z.B.
histologische) Untersuchungen zur Verfügung. Die Art der Präparat-
Vorbereitung hängt unter anderem davon ab, mit welchem Verfahren zur
Laser-Mikrodissektion die Bearbeitung des Präparats vorgenommen werden
15 soll.

Aus der DE 201 00 866.1 ist eine Trägervorrichtung für ein Präparat,
insbesondere für ein biologisches Präparat, bekannt, wobei das Präparat zum
Ausschneiden eines Präparatbereichs mittels eines fokussierten Laserstrahls
vorgesehen ist. Die Trägervorrichtung weist eine laserlichtabsorbierende und
20 somit laserschneidbare Folie zur Aufnahme des Präparats auf, wobei die
Folie auf einen rahmenförmigen Halter aufgebracht ist, so das sie freigespannt
ist, also nicht durch weitere Trägermittel unterhalb der Folie unterstützt oder
getragen wird. Diese Trägervorrichtung für ein Präparat ist speziell dazu
ausgelegt, in einem Verfahren zur Laser-Mikrodissektion angewendet zu
25 werden, in dem der schneidende, fokussierte Laserstrahl von oben auf das

Präparat gerichtet wird und der ausgeschnittene Präparatbereich nach dem Schneidvorgang herabfällt.

Ein solches Verfahren wurde bereits in dem Artikel „Cell surgery by laser micro-dissection: a preparative method“, G. Isenberg, W. Bielser, W. Meier-
5 Ruge, E. Remy, Journal of Microscopy, Vol. 107, Mai 1976, Seiten 19 – 24, beschrieben. Dabei wird ein fokussierter Laserstrahl eines gepulsten UV-Lasers von oben auf ein, vorzugsweise biologisches, Präparat gerichtet und ein interessierender Präparatbereich mit dem fokussierten Laserstrahl entlang einer geschlossenen Schnittlinie umfahren. Dadurch wird der
10 interessierende Präparatbereich vollständig aus seiner Umgebung herausgetrennt und fällt herab in eine Sammelvorrichtung.

Die DE 100 39 979 A1 beschreibt eine Trägervorrichtung und ein Laser-Mikrodissektionsverfahren zur Separierung eines interessierenden Präparatbereichs aus einem biologischen Lebend-Präparat, bei dem der
15 interessierende Präparatbereich mit einem eine Schnittlinie erzeugenden Laserstrahl ausgeschnitten wird. Das Lebend-Präparat ist auf einer laserschneidbaren Folie aufgebracht, die durch ein Trägermittel gestützt wird. Nach dem Schließen der Schnittlinie bleibt der mitsamt einem Folienteil ausgeschnittene Präparatbereich auf dem Trägermittel liegen und wird erst
20 durch einen weiteren, zusätzlich erforderlichen Laserpuls nach oben zu einer Auffangvorrichtung katapultiert. Da die Nährflüssigkeit über dem Präparat das Katapultieren behindert, muss in der Regel die Nährflüssigkeit vor dem Katapultieren abgossen werden, was die Überlebensdauer des Lebend-Präparats deutlich verkürzt.

Ein neueres Verfahren und eine Vorrichtung zur Laser-Mikrodissektion beschreibt die DE 100 43 506. Dabei wird ein fokussierter Laserstrahl von oben auf ein, vorzugsweise biologisches, Präparat gerichtet wird. In einem ersten Schritt wird ein interessierender Präparatbereich mit dem fokussierten Laserstrahl entlang einer offenen, den interessierenden Präparatbereich
25 weitgehend unschließenden Schnittlinie umfahren wird, wobei zwischen
30 Anfang und Ende der Schnittlinie ein stabiler Steg stehen bleibt, über den der

- interessierende Präparatbereich mit der umgebenden Probe verbunden ist. In einem zweiten Schritt wird der Steg mit einem einzigen fokussierten, auf den Steg gerichteten Laserpuls durchgeschnitten, wobei die Schnittbreite zuvor auf die Breite des Steges angepasst, d.h. vergrößert, wurde. Mit dem letzten
- 5 schneidenden Laserpuls wird der interessierende Präparatbereich vollständig aus seiner Umgebung herausgetrennt und fällt herab. Das Verfahren hat gegenüber dem vorher genannten Verfahren den Vorteil, dass es ein Wegklappen bzw. Verdrehen des fast ausgeschnittenen Präparatbereichs gegen Ende des Schneidvorgangs verhindert.
- 10 Die bisherigen Anwendungsgebiete der Laser-Mikrodissektion bestanden in der Selektion von Zellen aus histologischen Schnitten, z.B. in der molekularen Pathologie, der Zellbiologie und der Neuroforschung. Zunehmend besteht jedoch bei den Anwendern der Wunsch, auch eine Selektion von Zellen aus einer Kultur oder Ansammlung von lebenden Zellen vorzunehmen. Für die
- 15 Zellkultur müssen daher die oben genannten Trägervorrichtungen in eine Petrischale gelegt werden. Anschließend werden die Folien der Trägervorrichtungen mit Kulturmedium benetzt bzw. beschichtet und die gewünschten Zellen darauf ausgesät. Nach Anwachsen der Zellen werden die Trägervorrichtungen aus der Petrischale entnommen und in eine Vorrichtung
- 20 zur Laser-Mikrodissektion, wie in der DE 100 43 506 beschrieben, eingelegt.
- Dies Verfahren hat den Nachteil, dass die Zellen nach der Entnahme der Trägervorrichtung aus der Petrischale nur noch kurze Zeit am Leben gehalten werden können. Außerdem kann die Folie der Trägervorrichtungen bei der Handhabung beschädigt werden. Weiterhin kann es zu Kontaminationen an
- 25 der Vorrichtung zur Laser-Mikrodissektion kommen, da die Trägervorrichtung auch im Bereich ihres Rahmens bzw. ihrer Unterseite mit Kulturmedium in Kontakt kommt, so dass es dort ebenfalls zu einer Besiedlung mit Zellen kommen kann. Bei der Untersuchung von Krankheitserregern ergibt sich daher nicht nur ein Handhabungsproblem, sondern auch ein hygienisches
- 30 Problem.

Es ist daher Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine Trägervorrichtung anzugeben, welche in komfortabler und hygienischer Weise eine Laser-Mikrodissektion an lebenden Zellkulturen insbesondere mit einem von oben auf das Präparat gerichteten Laserstrahl erlaubt.

- 5 Diese Aufgabe wird gelöst durch eine Trägervorrichtung für ein biologisches, mittels Laser-Mikrodissektion schneidbares Präparat, das auf einer freigespannten laserlichtabsorbierenden Folie angeordnet ist, welche auf einen rahmenförmigen Halter aufgebracht ist, wobei sich die Trägervorrichtung erfindungsgemäß dadurch auszeichnet, dass der
- 10 rahmenförmige Halter im wesentlichen als Wand einer Petrischale mit ganz oder teilweise fehlendem Boden ausgebildet ist und dass anstelle des fehlenden Bodens ausschließlich die laserlichtabsorbierende Folie angeordnet ist.

- Die erfindungsgemäße Trägervorrichtung hat den Vorteil, dass die
- 15 Trägervorrichtung selbst zur Vorkultur der Zellen verwendet wird, wodurch die Zellvorkultivierung vereinfacht ist. Nach der Anzucht befinden sich die Zellen auch während der Laser-Mikrodissektion unter optimierten, zuverlässigen Wachstumsbedingungen. Das Handhabungsproblem entfällt, da eine Entnahme der Zellkulturen aus der Petrischale, wie bisher, nicht mehr
- 20 erforderlich ist. Ebenso ist eine Kontamination der benutzten Vorrichtung zur Laser-Mikrodissektion ausgeschlossen.

- Es sind verschiedene Ausgestaltungen der Trägervorrichtung möglich. So kann beispielsweise der gesamte Boden der Petrischale durch die laserlichtabsorbierende Folie gebildet werden. Es ist aber auch denkbar, nur
- 25 einen Teil des Bodens der Petrischale durch die laserlichtabsorbierende Folie zu bilden. So kann beispielsweise die Wand der Petrischale sowie noch ein Randbereich des Bodens aus Kunststoff ausgebildet sein und nur eine verbleibende Öffnung des Bodens der Petrischale wird durch die Folie geschlossen. Entscheidend ist, dass die Folie zum einen
- 30 laserlichtabsorbierend, also laserschneidbar, ist als auch, dass die Folie stabil genug ist, um in der überspannten Bodenöffnung nicht durchzuhängen und

das Kulturmedium samt Zellen zu tragen. Die Schichtdicke der Folie muss daher ausreichend dick gewählt werden.

- Bewährt hat sich daher für die laserlichtabsorbierende Folie der Trägervorrichtung eine Polyethylen-Naphtalat-Folie (PEN), die vorzugsweise
- 5 eine Dicke von 1,35 μm oder 2,5 μm aufweist. Je nach Anwendung können aber auch andere Foliendicken zum Einsatz kommen.

- Die Verbindung zwischen der Wand der Petrischale und der laserlichtabsorbierenden Folie kann auf unterschiedliche Weise realisiert werden. So kann beispielsweise die laserlichtabsorbierende Folie mit dem
- 10 unteren Rand der Wand der Petrischale bzw. dem Randbereich der Öffnung im Boden der Petrischale verschweißt sein.

- Ein preiswerte Lösung besteht darin, dass die Wand der Petrischale mit der laserlichtabsorbierenden Folie verklebt ist. Dazu kann die Verklebung mittels eines Klebebandes vorgenommen werden. Das Klebeband wird dazu
- 15 vorzugsweise in Form einer Schablone so ausgestaltet ist, dass das Klebeband auf seiner einen Seite mit der Wand der Petrischale und auf seiner anderen Seite mit der laserlichtabsorbierende Folie verklebt ist.

- In einer anderen Ausgestaltung der Verbindung zwischen der Wand der Petrischale und der laserlichtabsorbierenden Folie kann die Folie auf
- 20 ringförmigen Halteelementen bereits vorpräpariert, also mittels Schweiß- oder Klebetechnik aufgebracht sein. Der Durchmesser der ringförmigen Halteelemente ist auf die zylindrisch ausgebildete Wand der Petrischale abgestimmt. Die ringförmigen Halteelemente weisen Rastnuten auf, welche ein Einrasten der Wand der Petrischale erlauben, so dass eine
- 25 flüssigkeitsdichte, wiederlösbare Verbindung zwischen der Wand der Petrischale und dem ringförmigen Halteelement mit dem laserschneidbaren Folienboden entsteht. Diese Ausführungsform hat den Vorteil, dass das ringförmige Halteelement mit dem laserschneidbaren Folienboden wieder von der Wand der Petrischale getrennt werden kann, so dass die Zellkultur

entweder weiterbearbeitet werden kann oder beispielsweise platzsparend archiviert bzw. eingefroren werden kann.

Für die Handhabung im Labor erweist es sich als vorteilhaft, wenn die laserlichtabsorbierende Folie hydrophil ausgestaltet ist, da dies das
5 Aufbringen eines Zellkulturmediums auf die laserschneidbare Folie erleichtert. Üblicherweise wird als Nährmedium eine Nährflüssigkeit verwendet. Nährmedien für die Zellkultur sind im Handel erhältlich, beispielsweise DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) oder RPMI (Rosewell Park Memorial Institute Medium) oder MEM.

10 Je nach Größe der ausgeschnittenen Präparatbereiche kann die Nährflüssigkeit durch die mikroskopisch kleinen Löcher, die bei der Laser-Mikrodissektion in der laserschneidbaren Folie entstanden sind, hindurchsickern. Daher erweist es sich als besonders vorteilhaft, wenn das Nährmedium als ein Nähr-Gel ausgebildet ist, das ausreichend fest oder
15 zumindest sehr viskos ist, so dass es um die durch Mikrodissektion erzeugten Löcher in der laserschneidbaren Folie „stehen bleibt“.

Das Heraustrennen des gewünschten Präparatbereiches kann erfolgen, indem der interessierende Präparatbereich mit dem fokussierten Laserstrahl entlang einer geschlossenen Schnittlinie umfahren wird. Nachdem der interessierende
20 Präparatbereich mittels des Laserstrahls vollständig aus seiner Umgebung herausgetrennt ist, fällt er herab und kann in einer Auffangvorrichtung gesammelt werden.

In einem alternativen Schneidverfahren wird ein interessierender Präparatbereich mit dem fokussierten Laserstrahl entlang einer offenen, den
25 interessierenden Präparatbereich weitgehend unschließenden Schnittlinie umfahren wird. Dabei bleibt zwischen Anfang und Ende der Schnittlinie ein stabiler Steg stehen, über den der interessierende Präparatbereich mit der umgebenden Probe verbunden ist. In einem zweiten Schritt wird der Steg mit einem einzigen fokussierten, auf den Steg gerichteten Laserpuls, dessen

Schnittbreite auf den Steg angepasst ist, durchgeschnitten. Dadurch wird der interessierende Präparatbereich vollständig aus seiner Umgebung herausgetrennt und fällt herab.

- Die erfindungsgemäße Trägervorrichtung erlaubt die Verwendung eines
- 5 Verfahrens zur Laser-Mikrodissektion an biologischen Lebend-Zellkulturen, bei dem ein fokussierter Laserstrahl von oben auf ein biologisches Lebend-Präparat gerichtet wird. Dabei werden die Zellen besonders schonend behandelt, da sie nach dem Ausschneiden durch Schwerkraft in ein Sammelgefäß fallen. Ein mechanischer oder laser-induzierter Transport der
- 10 Zellen, der die Gefahr der Zellschädigung in sich birgt, wird dadurch überflüssig.

- Anwendungsbereiche sind die Selektion von vorzugsweise lebenden Zellen oder Organismen aus Reinkulturen oder Mischkulturen, um sie einer weiteren Analyse oder Kultivierung zuzuführen. So kann beispielsweise eine
- 15 Separierung von Krebszellen aus einem Verband gesunder Zellen, von gefärbten Zellen aus Kulturen, von Mikro-Organismen aus Mischkulturen (bzw. Kulturen) oder von Parasiten aus Kulturen vorgenommen werden.

Vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung werden nachfolgend anhand der schematischen Zeichnung erläutert. Es zeigen:

- 20 **Fig. 1:** eine erste Ausgestaltung einer Trägervorrichtung mit vollflächigem Folienboden;
- Fig. 2:** eine zweite Ausgestaltung einer Trägervorrichtung mit nicht vollflächigem Folienboden;
- Fig. 3:** eine dritte Ausgestaltung einer Trägervorrichtung mit reversibel
- 25 anfügbarem vollflächigem Folienboden;
- Fig. 4:** eine Vorrichtung zur Laser-Mikrodissektion mit einer Trägervorrichtung mit vollflächigem Folienboden;

Fig. 1 zeigt eine erste Ausgestaltung einer Trägervorrichtung 1 mit vollflächigem Folienboden. Dabei zeigt **Fig. 1a** die Trägervorrichtung 1 in einem senkrechten Schnitt. **Fig. 1b** zeigt die Trägervorrichtung 1 von unten.

Die Trägervorrichtung 1 weist einen rahmenförmigen Halter auf, der als Wand 2 einer Petrischale ausgebildet ist, die typischerweise aus Kunststoff besteht. Die Petrischale weist keinen Boden auf. Der fehlende Boden der Petrischale ist ersetzt durch eine laserlichtabsorbierende und damit laserschneidbare Folie 3, die an dem unteren Rand 4 der Wand 2 angeklebt ist. Der Kleber ist nur in dünner Schicht aufgetragen und daher nicht dargestellt. Entscheidend ist, dass die Klebe-Verbindung beständig gegen eine später aufzubringende Nährlösung oder ein viskoses Nährgel für die anzuziehende Zellkultur ist. Darüber hinaus muss sichergestellt sein, dass der Kleber nicht zytotoxisch ist, damit das biologische Präparat nicht geschädigt wird.

Die Absorption der laserschneidbaren Folie 3 ist an die Wellenlänge des zum Schneiden vorgesehenen Lasers angepasst, wobei vorzugsweise ein gepulster UV-Laser zur Laser-Mikrodissektion verwendet wird. Bewährt hat sich daher für die laserlichtabsorbierende Folie 3 der Trägervorrichtung 1 die Verwendung einer Polyethylen-Naphtalat-Folie (PEN), die vorzugsweise eine Dicke von 1,35 μm oder 2,5 μm aufweist. Je nach Anwendung können aber auch andere Foliendicken zum Einsatz kommen.

Um später ein problemloses Schneiden mit dem fokussierten Laserstrahl zu ermöglichen, muss die Folie exakt eben und ohne Wellenbildung aufgebracht sein. Nur dann ist es möglich, nach einer einmal vorgenommenen Justierung des Fokus des Laserstrahls durch einfache Relativbewegung des Laserstrahls und der Trägervorrichtung zueinander an verschiedenen Stellen der Folie schneiden zu können, so dass eine geschlossene Schnittlinie entstehen kann.

Ein biologisches Präparat 5 ist auf die laserschneidbare Folie 3 aufgebracht. In vorliegenden Beispiel handelt es sich um ein biologisches Lebend-Präparat. Dies wurde gewonnen, indem die laserschneidbare Folie 3 der

Trägervorrichtung 1 mit Kulturmedium benetzt bzw. beschichtet wurde. Darauf wurden die gewünschten Zellen ausgesät. Entscheidend ist hierbei, dass die Dicke der laserschneidbaren Folie 3 ausreichend ist, um das Präparat und das Kulturmedium zu tragen, ohne sich durchzubiegen. Nur dann ist später, wie
5 oben beschrieben, ein präzises Schneiden der ebenen Folie 3 in einer einzigen Fokuseinstellung des Laserstrahls möglich. Durch das Anwachsen der Zellkultur entstand das Präparat 5. Nunmehr kann die Trägervorrichtung 1 mitsamt dem Präparat 5, also der Zellkultur, in eine Vorrichtung zur Laser-Mikrodissektion eingelegt werden.

10 **Fig. 2** zeigt eine zweite Ausgestaltung einer Trägervorrichtung 1 mit nicht vollflächigem Folienboden. Dabei zeigt **Fig. 2a** die Trägervorrichtung 1 in einem senkrechten Schnitt. Die Trägervorrichtung 1 weist einen rahmenförmigen Halter auf, der als Wand 2 einer Petrischale ausgebildet ist und noch einen äußeren ringförmigen Teil 6 des Bodens der Petrischale
15 bildet.

Fig. 2b zeigt die Trägervorrichtung 1 von unten. In dieser Darstellung ist deutlich sichtbar, dass die Petrischale keinen geschlossenen Boden aufweist. Statt dessen ist nur ein äußerer ringförmiger Teil 6 des Bodens der Petrischale vorhanden, der eine freie Öffnung 7 umschließt. Die Öffnung 7 ist
20 überspannt und damit geschlossen durch eine laserlichtabsorbierende und damit laserschneidbare Folie 3, die an der Unterseite des ringförmigen Teils 6 des Bodens der Petrischale angeklebt ist. Auf diese Weise ersetzt die laserschneidbare Folie 3 den fehlenden Boden der Petrischale. Im vorliegenden Beispiel wurde die Klebung mittels einer passend geformten
25 Klebefolie 8 realisiert.

Fig. 2c zeigt in Aufsicht eine Ausführungsform dieser passend geformten Klebefolie 8. Sie ist schablonenförmig so vorgeformt, dass es die freie Öffnung 7 vollständig umschließt. Eine kleine Lasche 9 erleichtert die Handhabung.

Bei der Klebefolie 8 kann es sich vorzugsweise um ein doppelseitig klebendes
30 Klebeband handeln, bei dem auf einem festen, nicht lösbaaren Trägermaterial

beidseitig Klebstoff aufgebracht, der jeweils außenseitig mit einer Deckfolie abgedeckt ist. Nach Abziehen der ersten Deckfolie kann das Klebeband mit dem freigelegten Klebstoff auf die gewünschte Stelle an der Unterseite des ringförmigen Teils 6 des Bodens der Petrischale platziert werden.

- 5 Anschließend wird auch die zweite Deckfolie abgezogen, so dass das Klebeband mit seinem Trägermaterial am ringförmigen Teil 6 des Bodens verbleibt. Dann kann die laserschneidbare Folie 3 auf den frei liegenden Klebstoff des Klebebands aufgebracht und mit diesem verklebt werden.

- 10 Alternativ kann als Klebefolie 8 auch ein fester Klebstofffilm verwendet werden, der zwischen zwei stabilen Deckfolien aufgebracht ist. Nach Abziehen der ersten Deckfolie kann der Klebstofffilm auf die gewünschte Stelle an der Unterseite des ringförmigen Teils 6 des Bodens der Petrischale platziert werden. Anschließend wird auch die zweite Deckfolie abgezogen, so dass ausschließlich der Klebstofffilm am ringförmigen Teil 6 des Bodens
15 verbleibt. Dann kann die laserschneidbare Folie 3 auf den Klebstofffilm aufgebracht und mit diesem verklebt werden.

- Entscheidend ist bei allen Klebungen stets, dass die Klebung beständig gegen eine später aufzubringende Nährlösung oder ein viskoses Nährgel für die anzuziehende Zellkultur ist. Außerdem muss die Klebeverbindung dem
20 Gewicht von Folie 3, Nährmedium und Zellkultur standhalten. Darüber hinaus muss sichergestellt sein, dass die Klebefolie nicht zytotoxisch ist, damit das biologische Präparat nicht geschädigt wird.

- Fig. 3** zeigt eine weitere Ausgestaltung einer Trägervorrichtung 1 mit einem reversibel anfügbarem vollflächigem Folienboden. Dabei zeigt **Fig. 3a** die
25 Trägervorrichtung 1 in einem senkrechten Schnitt. Die Trägervorrichtung weist einen rahmenförmigen Halter auf, der als Wand 2 einer Petrischale ausgebildet ist. Die Petrischale weist keinen Boden auf. Der fehlende Boden der Petrischale ist ersetzt durch eine laserlichtabsorbierende und damit laserschneidbare Folie 3.

- Die laserschneidbare Folie 3 ist im Gegensatz zu dem Ausführungsbeispiel aus **Fig. 1** jedoch nicht direkt an dem unteren Rand der Wand 2 angeklebt. Statt dessen weist die Trägervorrichtung zusätzlich ein ringförmiges Halteelement 10 auf, an dessen Unterseite die laserschneidbare Folie 3
- 5 aufgeklebt ist. An seiner Oberseite weist das ringförmige Halteelement 10 eine umlaufende Rastnut 11 auf, in welche die untere Kante der Wand 2 der Petrischale eingerastet ist. Dazu sind der Durchmesser des ringförmigen Halteelementes 10 und der Rastnut 11 auf die zylindrisch ausgebildete Wand der Petrischale angepasst.
- 10 **Fig. 3b** zeigt die Trägervorrichtung 1 von unten. Sichtbar ist das ringförmige Halteelement 10, an dessen Unterseite die laserschneidbare Folie 3 aufgeklebt ist. Die Klebung kann nach einer der Methoden vorgenommen werden, die zu **Fig. 1** und **Fig. 2** beschrieben wurden.
- Fig. 3c** zeigt das ringförmige Halteelement 10 in der Aufsicht mit der auf der
- 15 Oberseite umlaufenden Rastnut 11. Die Rastverbindung ist flüssigkeitsdicht, so dass die laserschneidbare Folie 3 mit flüssigem Nährmedium bedeckt werden kann, ohne dass Flüssigkeit durch die Rastverbindung hindurchtritt. Zugleich wird durch die Rastverbindung eine wiederlösbare Verbindung zwischen der Wand 2 der Petrischale und dem ringförmigen Halteelement 10
- 20 mit der laserschneidbaren Folie 3 gebildet. Diese Ausführungsform hat den Vorteil, dass bei Bedarf das ringförmige Halteelement 10 mit der laserschneidbaren Folie 3 wieder von der Wand 2 der Petrischale getrennt werden kann.
- In **Fig. 4** ist eine Vorrichtung zur Laser-Mikrodissektion mit einer
- 25 erfindungsgemäßen Trägervorrichtung 1 dargestellt. Mit der Vorrichtung zur Laser-Mikrodissektion wird beim Schneiden ein Laserstrahl über einer relativ dazu festgehaltenes Präparat bewegt. Die Vorrichtung zur Laser-Mikrodissektion umfasst ein Mikroskop 12 mit einem Mikroskopstativ 18 und einem motorisch verfahrbaren xy-Tisch 13 auf. Der xy-Tisch 13 dient der
- 30 Aufnahme der Trägervorrichtung 1.

Die Trägervorrichtung 1 weist einen rahmenförmigen Halter auf, der als Wand 2 einer Petrischale ausgebildet ist, die typischerweise aus Kunststoff besteht. Die Petrischale weist keinen Boden auf. Der fehlende Boden der Petrischale ist ersetzt durch eine laserlichtabsorbierende und damit laserschneidbare

5 Folie 3, die an dem unteren Rand 4 der Wand 2 angeklebt ist. Der Kleber ist nur in dünner Schicht aufgetragen und daher nicht dargestellt. Auf der laserlichtabsorbierenden und damit laserschneidbaren Folie 3 ist ein biologisches Lebend-Präparat 5 aufgebracht bzw. bereits angezüchtet. Um das Präparat 5 von unten beleuchten zu können, weist der xy-Tisch 13 eine

10 rahmenförmige Tischöffnung 15 auf.

Bei dem dargestellten Mikroskop 12 handelt es sich um ein Durchlicht-Mikroskop. Dazu ist unter dem xy-Tisch 13, und damit auch unterhalb des Präparats 5, ein Beleuchtungssystem 15 und ein Kondensor 21 angeordnet, der die Probe 4 beleuchtet. Unterhalb des Präparats 5 ist mindestens ein

15 Auffangbehältnis 29 zum Auffangen des ausgeschnittenen, interessierenden Präparatbereichs angeordnet. Das die Präparat 5 durchdringende Licht gelangt zum Objektiv 19 des Mikroskops 12. Innerhalb des Mikroskops 12 wird das Licht über nicht dargestellte Linsen und Spiegel mindestens einem Okular 22 zugeleitet, durch welches ein Bediener das auf dem xy-Tisch 13

20 angeordnete Präparat 5 betrachten kann.

Von einem Laser 16, in diesem Beispiel ein UV-Laser, geht ein Laserstrahl 17 aus, der in einen Auflicht-Beleuchtungsstrahlengang mit einer optischen Achse 20 eingekoppelt wird. In dem Beleuchtungsstrahlengang ist eine Laser-Scan-Einrichtung 30 angeordnet. Der Laserstrahl 17 durchläuft die Laser-

25 Scan-Einrichtung 30 und gelangt über ein optisches System 23 zu einem Objektiv 19, das den Laserstrahl 17 auf das Präparat 5 fokussiert. Das optische System 23 ist vorzugsweise als dichromatischer Teiler ausgeführt, durch den ein von dem Präparat 5 durch das Objektiv 19 ausgehender Abbildungsstrahlengang zu mindestens einem Okular 22 gelangt. Alternativ

30 kann das optische System 23 aus mehreren optischen Bauteilen bestehen.

Dies ist beispielsweise dann der Fall, wenn der Laserstrahl 17 mehrfach umgelenkt werden muss.

5 Ferner ist im Laserstrahl 17 eine Blende 24 vorgesehen, mit welcher der Durchmesser des Laserstrahls 17 einstellbar ist. Die Blende 24 kann z.B. als eine Festblende ausgebildet sein. In einer vorteilhaften Ausführungsform können mehrere Festblenden auf einer Revolverscheibe oder einem Linearschieber angeordnet sein, um eine dieser Festblenden als die jeweils erforderliche Blende 24 in den Strahlengang einzubringen. Das Einbringen in den Laserstrahl 17 wird manuell durch den Benutzer oder motorisch
10 durchgeführt.

Die Einstellung der Laser-Scan-Einrichtung 30 und damit die Verstellung des Laserstrahls 17 auf das Präparat 5 erfolgt in dieser Ausführungsform mit einem der Laser-Scan-Einrichtung 30 zugeordneten Motor 31, einer Steuerungseinheit 32 und einem Rechner 26. Der Motor 31 ist mit der
15 Steuerungseinheit 32 verbundenen, welche die Steuersignale zur Ansteuerung des Motors 31 liefert. Die Steuerungseinheit 32 ist mit dem Rechner 26 verbunden, an den ein Monitor 28 angeschlossen ist. Auf dem Monitor 28 wird das von einer Kamera 27 aufgenommene Bild des Präparats 5 dargestellt. Das System aus Rechner 26, Kamera 27 und Monitor 28 dient
20 dazu, den Schneidevorgang zu beobachten und zu überwachen. So kann der Rechner an den Laser Triggersignale zur Auslösung von Laserimpulsen und zur Steuerung der Laserleistung abgeben, den Blenden-Motor 25 ansteuern und eine (nicht dargestellte) Autofokuseinrichtung für den Laser 16 ansteuern. Dazu ist der Rechner 26 mit dem Laser 16 verbunden und liefert diesem
25 Triggersignale zum Auslösen von Laserimpulsen, wenn ein Schneidevorgang durchgeführt wird.

Mittels einer Rechner-Maus (nicht dargestellt) oder einer anderen beliebigen Cursorsteuerung-Einrichtung wird auf dem Monitor 28 der auszuschneidende, interessierende Probenbereich des Präparats 5 mittels eines Mauszeigers
30 umfahren. Auf diese Weise wird auf dem Monitor 28 in dem Kamerabild eine gewünschte Soll-Schnittlinie definiert.

Die Laser-Scan-Einrichtung 30 selbst dient als Schnittlinien-
Steuerungseinheit, die während des Schneidvorgangs den auf das biologische
Präparat 5 fokussierten Laserstrahl 17 über das feststehende Präparat 5
bewegt. Dazu wird während des Schneidvorgangs der xy-Tisch 13 horizontal,
5 also in x-Richtung und in y-Richtung, nicht verfahren.

Die Fokussierung des Laserstrahls 17 auf das biologische Präparat 5 kann
durch manuelle Höheneinstellung des xy-Tisches 13 bei gleichzeitiger
visueller Kontrolle des Kamerabildes durch einen Benutzer erfolgen.
Bedienungsfreundlicher ist jedoch eine Ausführungsform der Vorrichtung, die
10 eine Autofokus-Vorrichtung (nicht dargestellt) für den Laserstrahl 17 umfasst.

Durch Ansteuerung der Laser-Scan-Einrichtung 30 kann der Laserstrahl 17
auf beliebige Positionen auf dem Präparat 5 geführt werden. Während der
gesamten Vorbereitung des Schnitts und auch während des Schnitts selbst
kann das biologische Präparat 5 lebend erhalten werden, da die
15 Wachstumsbedingungen in der Trägervorrichtung 1 stets erhalten bleiben.

Durch geeignete Ansteuerung der Laser-Scan-Einrichtung 30 wird der
fokussierte Laserstrahl 17 über das Präparat 5 bewegt und dadurch eine
geschlossene Schnittlinie um den interessierenden Präparatbereich erzeugt.
Der interessierende Präparatbereich selbst wird zu keinem Zeitpunkt mit der
20 Laserstrahlung bestrahlt, so dass eine schädigende Wirkung der
Laserstrahlung auf den interessierenden Präparatbereich ausgeschlossen ist.
Nach dem Schließen der Schnittlinie ist der interessierende Präparatbereich
von dem umgebenden restlichen Präparat 5 vollständig getrennt und fällt unter
Einwirkung der Schwerkraft in das darunter angeordnete Auffangbehältnis 29.



Bezugszeichenliste

- | | | | | |
|----|--------------------------------|----|-----|------------------------|
| 1. | Trägervorrichtung | | 18. | Mikroskopstativ |
| 2. | Wand der Petrischale | 20 | 19. | Objektiv |
| 3. | Laserschneidbare Folie | | 20. | optische Achse |
| 5 | 4. unterer Rand der Wand 2 | | 21. | Kondensor |
| | 5. biologisches Präparat | | 22. | Okular |
| | 6. ringförmiger Teil | | 23. | optisches System |
| | 7. Öffnung | 25 | 24. | Blende |
| | 8. Klebefolie | | 25. | Blenden-Motor |
| 10 | 9. Lasche | | 26. | Rechner |
| | 10. ringförmiges Halteelement | | 27. | Kamera |
| | 11. Rastnut | | 28. | Monitor |
| | 12. Mikroskop | 30 | 29. | Auffangbehältnis |
| | 13. verfahrbarer xy-Tisch | | 30. | Laser-Scan-Einrichtung |
| 15 | 14. rahmenförmige Tischöffnung | | 31. | Motor für Laser-Scan- |
| | 15. Beleuchtungssystem | | | Einrichtung |
| | 16. Laser | | 32. | Steuerungseinheit |
| | 17. Laserstrahl | | | |
| 35 | | | | |

Patentansprüche

- 5 1) Trägervorrichtung (1) für ein biologisches, mittels Laser-Mikrodissektion schneidbares Präparat (5), das auf einer freigespannten laserlichtabsorbierenden Folie (3) angeordnet ist, die auf einen rahmenförmigen Halter aufgebracht ist **dadurch gekennzeichnet**, dass der rahmenförmige Halter im wesentlichen als Wand (2) einer Petrischale mit ganz oder teilweise fehlendem Boden ausgebildet ist und dass anstelle des fehlenden Bodens ausschließlich die
- 10 laserlichtabsorbierende Folie (3) angeordnet ist.
- 2) Trägervorrichtung (1) nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass der gesamte Boden der Petrischale durch die laserlichtabsorbierende Folie (3) gebildet wird.
- 15 3) Trägervorrichtung (1) nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass die laserlichtabsorbierende Folie (3) eine Polyethylen-Naphtalat-Folie (PEN) ist.
- 4) Trägervorrichtung (1) nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Polyethylen-Naphtalat-Folie eine Dicke von 1,35 μm oder 2,5 μm aufweist.
- 20 5) Trägervorrichtung (1) nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass die laserlichtabsorbierende Folie (3) mit der Wand (2) der Petrischale verschweißt ist.

- 6) Trägervorrichtung (1) nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**,
dass die Wand (2) der Petrischale mit der laserlichtabsorbierende Folie
(3) verklebt ist.
- 5 7) Trägervorrichtung (1) nach Anspruch 6, **dadurch gekennzeichnet**,
dass die Verklebung mittels einer in Form einer Schablone
ausgebildeten Klebefolie (8) so ausgestaltet ist, dass die Klebefolie (8)
auf ihrer einen Seite mit der zylindrischen Wand (2) und auf ihrer
anderen Seite mit der laserlichtabsorbierende Folie (3) verklebt ist.
- 10 8) Trägervorrichtung (1) nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**,
dass die Wand (2) der Petrischale zylindrisch ausgebildet ist und dass
die Folie (3) mittels Schweiß- oder Klebetechnik auf einem
ringförmigen Halteelement (10) vorpräpariert ist, dessen Durchmesser
an die zylindrisch ausgebildete Wand (2) der Petrischale angepasst ist
und das eine Rastnut (11) aufweist, welche ein Einrasten der Wand (2)
15 der Petrischale in das ringförmige Halteelement (10) erlaubt, so dass
eine flüssigkeitsdichte, wiederlösbare Verbindung zwischen der Wand
(2) der Petrischale und dem ringförmigen Halteelement (10) mit der
laserlichtabsorbierende Folie (3) entsteht.
- 20 9) Trägervorrichtung (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet, dass die laserlichtabsorbierende Folie (3)
hydrophil ausgestaltet ist.
- 25 10) Trägervorrichtung (1) nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass die laserlichtabsorbierende Folie (3) ein Nährmedium zur
Zellkultur trägt.
- 11) Trägervorrichtung (1) nach Anspruch 10, **dadurch gekennzeichnet**,
dass das Nährmedium als eine Nährflüssigkeit ausgebildet ist.

12) Trägervorrichtung (1) nach Anspruch 11, **dadurch gekennzeichnet**,
dass das Nährmedium als ein Nähr-Gel ausgebildet ist.

13) Verwendung einer Vorrichtung zur Laser-Mikrodissektion, in der ein
schneidender, fokussierter Laserstrahl (17) durch ein Objektiv (19) von
oben auf ein biologisches Präparat (5) gerichtet wird, wobei ein
interessierender Präparatbereich mit einer geschlossenen Schnittlinie
umfahren und aus seiner Umgebung herausgetrennt wird, zur
Mikrodissektion an biologischen Lebend-Kulturen,
dadurch gekennzeichnet,
dass als Präparat (5) eine biologische Lebend-Zellkultur auf einer
laserlichtabsorbierenden Folie (3) angeordnet ist, die auf einen
rahmenförmigen Halter aufgebracht ist, wobei der rahmenförmige
Halter im wesentlichen als Wand (2) einer Petrischale ausgebildet ist
und die laserlichtabsorbierende Folie (3) als Boden der Petrischale
ausgebildet ist.

14) Laser-Mikrodissektionsverfahren zur Separierung eines
interessierenden Präparatbereichs aus einem biologischen Lebend-
Präparat, wobei der interessierende Präparatbereich mit einem eine
Schnittlinie erzeugenden Laserstrahl ausgeschnitten wird,
dadurch gekennzeichnet,

- dass das biologische Lebend-Präparat (5) auf einer freigespannten
laserlichtabsorbierenden Folie (3) angeordnet wird, die auf einen
rahmenförmigen Halter aufgebracht ist, wobei der rahmenförmige
Halter im wesentlichen als Wand (2) einer Petrischale ausgebildet
ist und die laserlichtabsorbierende Folie (3) als Boden der
Petrischale ausgebildet ist,
- und dass der interessierende Präparatbereich nach dem Schließen
der Schnittlinie in ein darunter angeordnetes Auffangbehältnis
herabfällt.

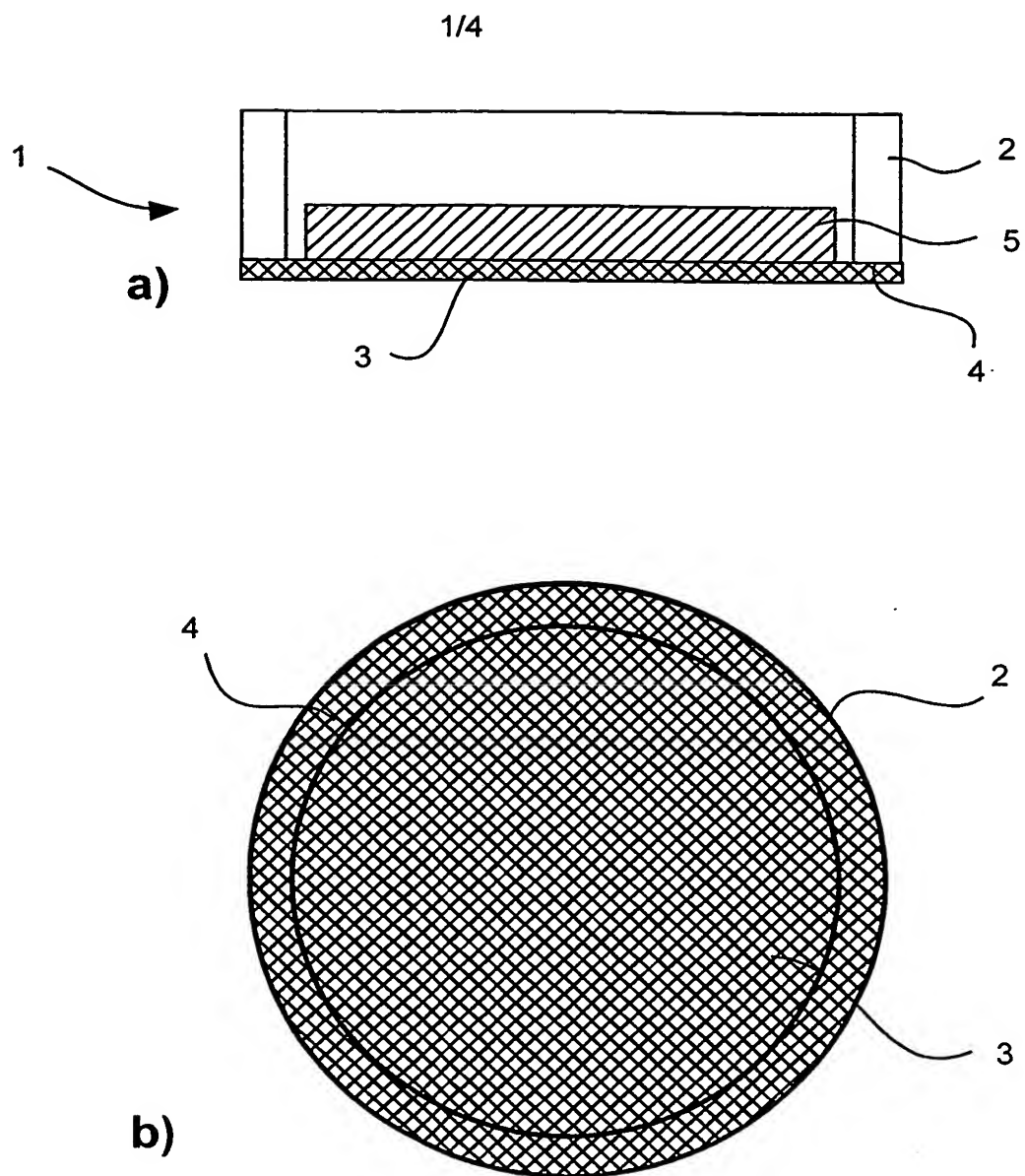
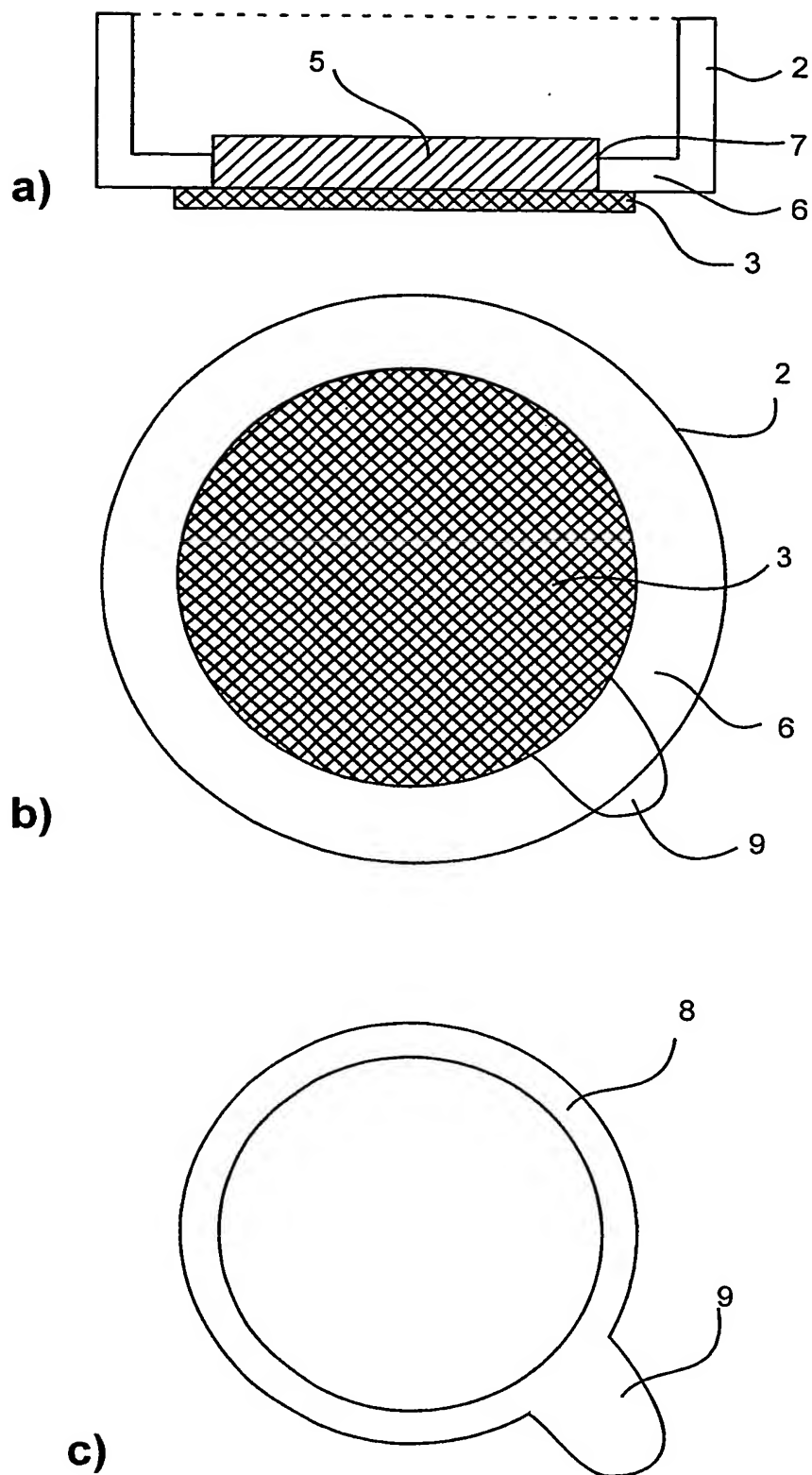


Fig. 1

2/4

**Fig. 2**

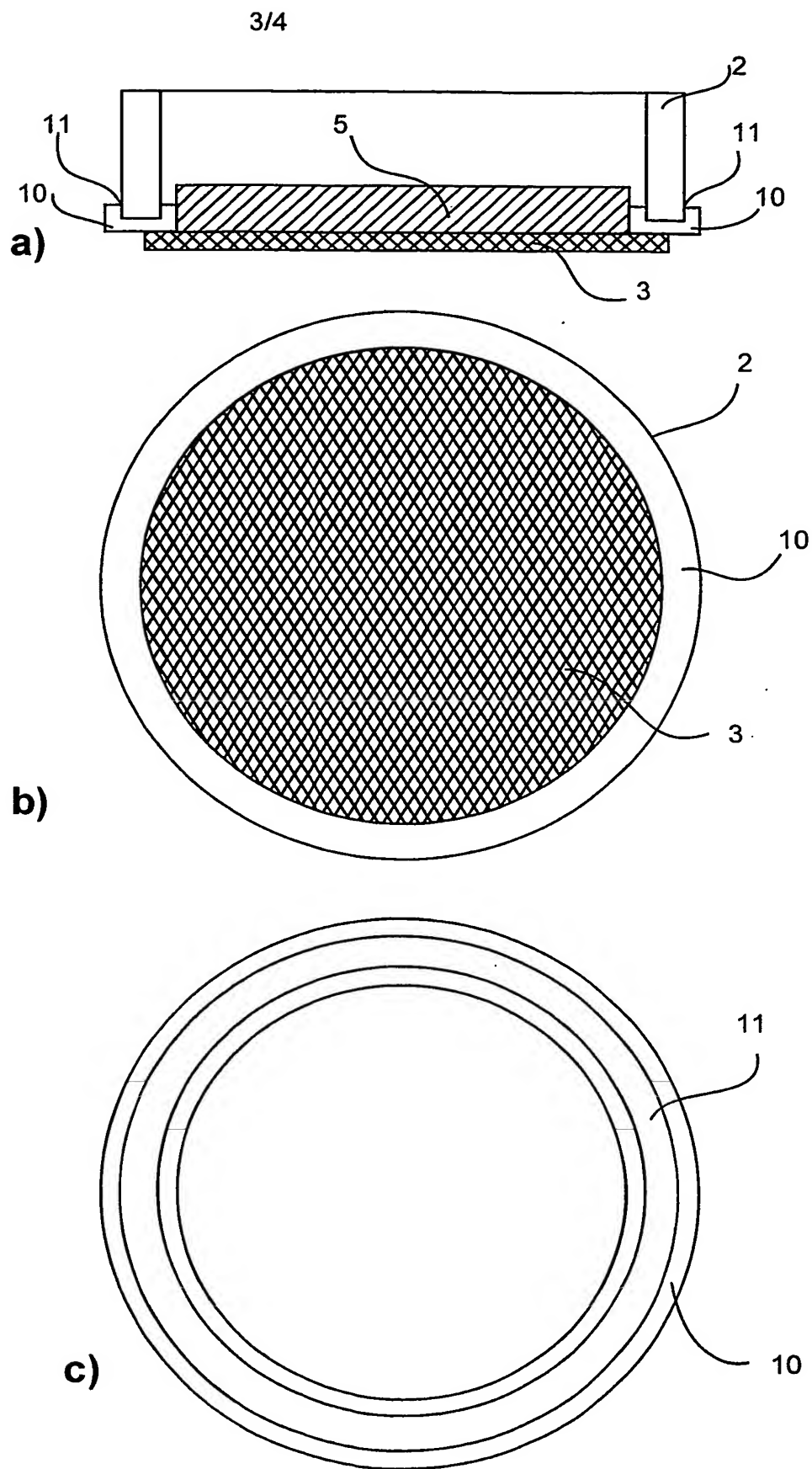
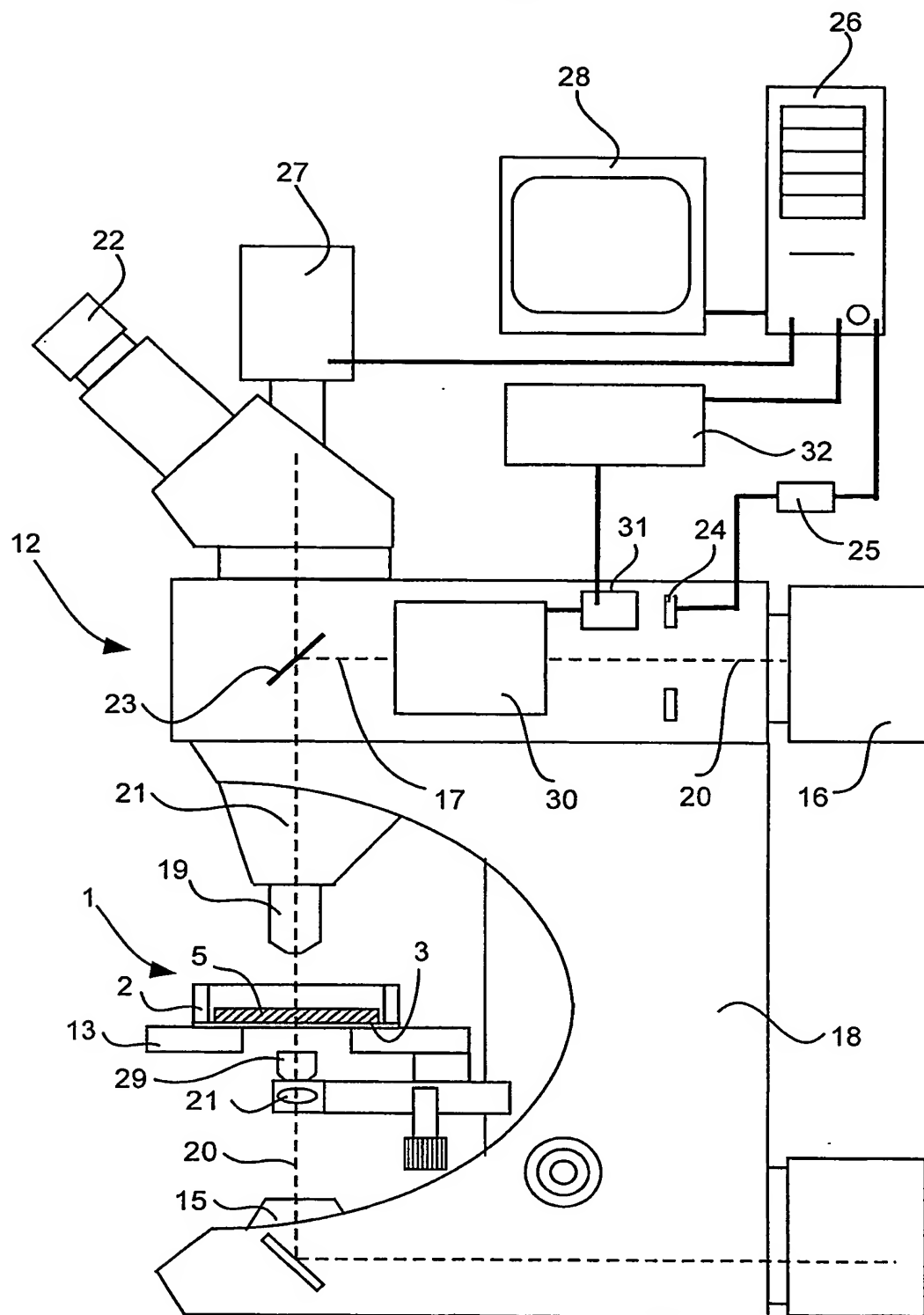


Fig. 3

4/4

**Fig. 4**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 03/07054

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01N1/28

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02 14833 A (SCHUETZE KARIN ; P A L M MICROLASER TECHNOLOGIE (DE)) 21 February 2002 (2002-02-21) cited in the application page 5, line 8 - line 18 page 6, line 1 - line 23 page 9, line 5 - line 15; claims 1-3,12,14-17; figure 1	1-14
A	DE 201 00 866 U (LEICA MICROSYST GMBH) 5 April 2001 (2001-04-05) cited in the application page 3, line 26 -page 4, line 8 page 6, line 28 -page 7, line 6; figure 1 page 8, line 1 - line 12; figure 7 -/-	1-14

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

*** Special categories of cited documents :**

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 October 2003

Date of mailing of the international search report

22/10/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hocquet, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/EP 03/07054

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 998 129 A (SCHUETZE KARIN ET AL) 7 December 1999 (1999-12-07) column 4, line 37 - column 5, line 31; figures 1-4 column 6, line 47 - line 50 column 6, line 8 - line 18; figure 5	1-14
A	US 2002/056345 A1 (JOHANNSEN GERHARD ET AL) 16 May 2002 (2002-05-16) cited in the application paragraphs '0005!, '0044! - '0046!	1-14
A	ISENBERG G ET AL: "CELL SURGERY BY LASER MICRO-DISSECTION: A PREPARATIVE METHOD" JOURNAL OF MICROSCOPY, OXFORD, GB, vol. 107, no. 1, 1 May 1976 (1976-05-01), pages 19-24, XP000671562 ISSN: 0022-2720 cited in the application	
A	DE 298 23 783 U (BOEHM MALTE) 8 June 2000 (2000-06-08) page 2, paragraphs 1,2	4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/EP 03/07054

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0214833	A	21-02-2002	DE 10039979 A1	07-03-2002
			AU 9377701 A	25-02-2002
			WO 0214833 A1	21-02-2002
			EP 1309846 A1	14-05-2003
			US 2003180941 A1	25-09-2003
DE 20100866	U	05-04-2001	DE 20100866 U1	05-04-2001
US 5998129	A	07-12-1999	DE 19603996 A1	14-08-1997
			DE 19616216 A1	30-10-1997
			AT 196360 T	15-09-2000
			CA 2245553 A1	14-08-1997
			DE 29723120 U1	14-05-1998
			DE 59702347 D1	19-10-2000
			WO 9729354 A1	14-08-1997
			WO 9729355 A1	14-08-1997
			EP 0879408 A1	25-11-1998
			ES 2150754 T3	01-12-2000
			JP 3311757 B2	05-08-2002
			JP 2000504824 T	18-04-2000
US 2002056345	A1	16-05-2002	DE 10043506 C1	06-12-2001
			EP 1186879 A2	13-03-2002
			JP 2002174778 A	21-06-2002
DE 29823783	U	08-06-2000	DE 19818425 A1	15-07-1999
			DE 29823783 U1	08-06-2000
			AT 246349 T	15-08-2003
			DE 59809151 D1	04-09-2003
			EP 0926480 A2	30-06-1999

INTERNATIONALE RESEARCHENBERICHT

Internationale Aktenzeichen

PCT/EP 03/07054

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 G01N1/28

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 02 14833 A (SCHUETZE KARIN ; P A L M MICROLASER TECHNOLOGIE (DE)) 21. Februar 2002 (2002-02-21) in der Anmeldung erwähnt Seite 5, Zeile 8 - Zeile 18 Seite 6, Zeile 1 - Zeile 23 Seite 9, Zeile 5 - Zeile 15; Ansprüche 1-3,12,14-17; Abbildung 1	1-14
A	DE 201 00 866 U (LEICA MICROSYST GMBH) 5. April 2001 (2001-04-05) in der Anmeldung erwähnt Seite 3, Zeile 26 -Seite 4, Zeile 8 Seite 6, Zeile 28 -Seite 7, Zeile 6; Abbildung 1 Seite 8, Zeile 1 - Zeile 12; Abbildung 7	1-14
	-/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

13. Oktober 2003

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

22/10/2003

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Hocquet, A

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 5 998 129 A (SCHUETZE KARIN ET AL) 7. Dezember 1999 (1999-12-07) Spalte 4, Zeile 37 - Spalte 5, Zeile 31; Abbildungen 1-4 Spalte 6, Zeile 47 - Zeile 50 Spalte 6, Zeile 8 - Zeile 18; Abbildung 5	1-14
A	US 2002/056345 A1 (JOHANNSEN GERHARD ET AL) 16. Mai 2002 (2002-05-16) in der Anmeldung erwähnt Absätze '0005!', '0044!' - '0046!'	1-14
A	ISENBERG G ET AL: "CELL SURGERY BY LASER MICRO-DISSECTION: A PREPARATIVE METHOD" JOURNAL OF MICROSCOPY, OXFORD, GB, Bd. 107, Nr. 1, 1. Mai 1976 (1976-05-01), Seiten 19-24, XP000671562 ISSN: 0022-2720 in der Anmeldung erwähnt	
A	DE 298 23 783 U (BOEHM MALTE) 8. Juni 2000 (2000-06-08) Seite 2, Absätze 1,2	4

INTERNATIONALER RESEARCHBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationale Aktenzeichen

PCT/EP 03/07054

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 0214833	A	21-02-2002	DE	10039979 A1	07-03-2002
			AU	9377701 A	25-02-2002
			WO	0214833 A1	21-02-2002
			EP	1309846 A1	14-05-2003
			US	2003180941 A1	25-09-2003
DE 20100866	U	05-04-2001	DE	20100866 U1	05-04-2001
US 5998129	A	07-12-1999	DE	19603996 A1	14-08-1997
			DE	19616216 A1	30-10-1997
			AT	196360 T	15-09-2000
			CA	2245553 A1	14-08-1997
			DE	29723120 U1	14-05-1998
			DE	59702347 D1	19-10-2000
			WO	9729354 A1	14-08-1997
			WO	9729355 A1	14-08-1997
			EP	0879408 A1	25-11-1998
			ES	2150754 T3	01-12-2000
			JP	3311757 B2	05-08-2002
			JP	2000504824 T	18-04-2000
US 2002056345	A1	16-05-2002	DE	10043506 C1	06-12-2001
			EP	1186879 A2	13-03-2002
			JP	2002174778 A	21-06-2002
DE 29823783	U	08-06-2000	DE	19818425 A1	15-07-1999
			DE	29823783 U1	08-06-2000
			AT	246349 T	15-08-2003
			DE	59809151 D1	04-09-2003
			EP	0926480 A2	30-06-1999